



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104688678 B

(45)授权公告日 2017.11.17

(21)申请号 201510061595.6

A61K 47/10(2006.01)

(22)申请日 2015.02.05

A61P 3/10(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104688678 A

(56)对比文件

CN 102188367 A, 2011.09.21,

(43)申请公布日 2015.06.10

CN 102319422 A, 2012.01.18,

(73)专利权人 通化东宝药业股份有限公司

CN 103830189 A, 2014.06.04,

地址 134123 吉林省通化市东宝新村

审查员 蒋嘉瑜

(72)发明人 王文娜 郭银汉 武晓丽 牛丁
唐伟举 詹巾卓 秦丽静 孙洪艳

(74)专利代理机构 北京瑞恒信达知识产权代理
事务所(普通合伙) 11382
代理人 曹津燕 李琰

(51)Int.Cl.

A61K 9/08(2006.01)

A61K 38/28(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

(54)发明名称

一种甘精胰岛素注射液的制备方法及其制
备的甘精胰岛素注射液

(57)摘要

本发明提供一种甘精胰岛素注射液的制备
方法及其制备得到的甘精胰岛素注射液。所述制
备方法包括：甘油用部分注射用水溶解，配制成
甘油溶液，然后分为三份，分别加入甘精胰岛素、
间甲酚和氯化锌；先将甘精胰岛素-甘油溶液与
间甲酚-甘油溶液混合均匀，得到混合溶液I；再向
所述混合溶液I中加入盐酸溶液至pH=3.0~
3.5，然后加入氯化锌-甘油溶液，搅拌均匀，再加
入氢氧化钠溶液至pH=3.5~4.5；最后用注射用
水定容至终体积。本发明所述制备方法能够使甘
精胰岛素及其它辅料迅速溶解，显著缩短制备周
期时间，降低制备过程中产生的工艺杂质，提高
甘精胰岛素注射液的质量，同时减少工艺能耗，
提高生产效率，更适应规模化生产需求。

1. 一种甘精胰岛素注射液的制备方法,所述甘精胰岛素注射液由甘精胰岛素、甘油、间甲酚、氯化锌、盐酸、氢氧化钠和注射用水组成,其中,甘精胰岛素40~500IU/mL、甘油9.2~23mg/mL、间甲酚1.7~5.0mg/mL、锌5μg~200μg/mL;包括如下步骤:

(1) 甘油用部分注射用水溶解,配制成甘油溶液;注射用水的用量占所述甘精胰岛素注射液总体积的60%~80%;

(2) 所述甘油溶液分为三份,分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;用于制备所述甘精胰岛素-甘油溶液的甘油溶液不少于所述甘油溶液总体积的30%;用于制备所述间甲酚-甘油溶液的甘油溶液不少于所述甘油溶液总体积的50%;剩余的甘油溶液用于制备所述氯化锌-甘油溶液;

(3) 所述甘精胰岛素-甘油溶液与间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;

(4) 搅拌下,向所述混合溶液I中加入盐酸溶液至pH=3.0~3.5且溶液澄清;

(5) 向步骤(4)中得到的溶液中加入所述氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;

(6) 搅拌下,向步骤(5)中得到的溶液中加入氢氧化钠溶液至pH=3.5~4.5;

(7) 用注射用水定容至终体积。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(2)中,用于制备所述甘精胰岛素-甘油溶液的甘油溶液占所述甘油溶液总体积的30%~40%。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,用于制备所述间甲酚-甘油溶液的甘油溶液占所述甘油溶液总体积的50%~60%。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(2)中,所述甘油溶液按照体积比3~4:5~6:2~1分为三份,分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(4)中,所述盐酸溶液的浓度为0.1mol/L。

6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(4)中,调节pH=3.1~3.2。

7. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(6)中,所述氢氧化钠溶液的浓度为0.1mol/L。

8. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(6)中,调节pH=4.0。

9. 一种甘精胰岛素注射液的制备方法,所述甘精胰岛素注射液由甘精胰岛素、甘油、间甲酚、氯化锌、盐酸、氢氧化钠和注射用水组成,各组分的浓度为:甘精胰岛素40~500IU/mL、甘油9.2~23mg/mL、间甲酚1.7~5.0mg/mL、锌5μg~200μg/mL;具体的操作步骤包括:

(1) 甘油用占所述甘精胰岛素注射液总体积60%~80%的注射用水溶解,配制成甘油溶液;

(2) 所述甘油溶液按照体积比3~4:5~6:2~1分为三份,分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;

(3) 所述甘精胰岛素-甘油溶液与间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;

(4) 搅拌下,向所述混合溶液I中加入0.1mol/L盐酸溶液至pH=3.1~3.2且溶液澄清;

(5) 向步骤(4)中得到的溶液中加入所述氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;

- (6) 搅拌下,向步骤(5)中得到的溶液中加入0.1mol/L氢氧化钠溶液至pH=4.0;
- (7) 用注射用水定容至终体积。
10. 根据权利要求1至9中任一项所述的制备方法,其特征在于,还包括过滤除菌。
11. 根据权利要求1至9中任一项所述的制备方法,其特征在于,所述甘精胰岛素注射液中,含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油17mg/mL、间甲酚2.7mg/mL、锌30 μ g/mL。
12. 根据权利要求11所述的制备方法,其特征在于,所述甘精胰岛素注射液中,含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油16mg/mL、间甲酚3.2mg/mL、锌27 μ g/mL。

一种甘精胰岛素注射液的制备方法及其制备的甘精胰岛素注射液

技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂学领域,具体涉及一种甘精胰岛素注射液的制备方法及其制备的甘精胰岛素注射液。

背景技术

[0002] 甘精胰岛素是长效的人胰岛素类似物,用于成人和儿童I型糖尿病以及成人II型糖尿病。其经皮下注射后能形成稳定的六聚体,增加分子间的结合力,延缓溶解和吸收的时间,持续释放少量甘精胰岛素,从而具有可预见的、有长效作用的、平稳、无峰值的血药浓度/时间特性。甘精胰岛素因其长效特性,患者仅需要每天一次在固定的时间皮下注射给药。但是,I型糖尿病患者和口服降糖药失效的II型糖尿病患者需要终身使用胰岛素类产品控制血糖,因此在有效的前提下,保证用药的安全显得尤为重要。

[0003] 甘精胰岛素在接近中性的生理条件下溶解度低,溶液出现沉淀而呈浑浊状,而在酸性环境中能够完全溶解,溶液呈无色透明状。因此,现有的甘精胰岛素注射液均以酸性、均一、澄明的溶液形式注射使用。例如,美国专利US5656722公开了一种甘精胰岛素注射液的制备方法,是先将处方量的辅料溶于无菌溶媒中,在pH4的条件下,再加入甘精胰岛素。中国专利CN201110056210.9公开了通过加入吐温等表面活性剂制备稳定性提高的酸性胰岛素制剂的方法,其中所述酸性胰岛素制剂的制备方法是将胰岛素或胰岛素类似物先混悬在一部分注射用水中,在pH3-4下使溶解,再加入吐温等其他辅料,用盐酸或氢氧化钠将pH调至4.0,并将混合物定容至终体积。中国专利CN201110009384.X公开了通过加入PEG、并用枸橼酸调节pH来制备质量稳定、安全性好的甘精胰岛素注射液的方法。具体方法如下:步骤1.甘精胰岛素加入注射用水中,用枸橼酸调节pH至3.5-4.5使之溶解,加入PEG,0-5℃搅拌放置12-24h;步骤2.其他辅料加入注射用水中,用枸橼酸调节pH至3.5-4.5;步骤3.前者在搅拌条件下加入后者中,混匀,调节pH至3.8-4.2。

[0004] 由于甘精胰岛素在过酸过碱环境中稳定性均会大大降低,因热和物理机械应力发生凝聚的趋势增加,而注射剂制备过程中不可避免地要使用搅拌等物理手段,从而给制剂带来不希望的杂质。

[0005] 药品制备方法的改进是提升其质量的有效手段。因此,有必要开发出一种新的甘精胰岛素注射液的制备方法,达到减少工艺杂质、提高甘精胰岛素注射液质量的目的。

发明内容

[0006] 针对上述问题,本发明的一个目的在于提供一种甘精胰岛素注射液的制备方法。基于临床用药的安全性考虑,遵循“在满足需要的前提下,注射剂所用辅料的种类及用量应尽可能少”的基本原则,本发明通过优化甘精胰岛素注射液的制备工艺,达到缩短配制周期、降低工艺能耗、提高甘精胰岛素注射液质量的目的。

[0007] 为了实现上述技术效果,本发明采用如下的技术方案:

- [0008] 一种甘精胰岛素注射液的制备方法,所述甘精胰岛素注射液由甘精胰岛素、甘油、间甲酚、氯化锌、盐酸、氢氧化钠和注射用水组成;包括如下步骤:
- [0009] (1)甘油用部分注射用水溶解,配制成甘油溶液;
- [0010] (2)所述甘油溶液分为三份,分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;
- [0011] (3)所述甘精胰岛素-甘油溶液与间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;
- [0012] (4)搅拌下,向所述混合溶液I中加入盐酸溶液至pH=3.0~3.5且溶液澄清;
- [0013] (5)向步骤4中得到的溶液中加入所述氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;
- [0014] (6)搅拌下,向步骤5中得到的溶液中加入氢氧化钠溶液至pH=3.5~4.5;
- [0015] (7)用注射用水定容至终体积。
- [0016] 优选的,所述步骤1中,注射用水的用量占所述甘精胰岛素注射液总体积的60%~80%。
- [0017] 优选的,所述步骤2中,用于制备所述甘精胰岛素-甘油溶液的甘油溶液不少于所述甘油溶液总体积的30%;用于制备所述间甲酚-甘油溶液的甘油溶液不少于所述甘油溶液总体积的50%;剩余的甘油溶液用于制备所述氯化锌-甘油溶液。
- [0018] 更优选的,所述步骤2中,用于制备所述甘精胰岛素-甘油溶液的甘油溶液占所述甘油溶液总体积的30%~40%。
- [0019] 更优选的,所述步骤2中,用于制备所述间甲酚-甘油溶液的甘油溶液占所述甘油溶液总体积的50%~60%。
- [0020] 进一步优选的,所述步骤2中,所述甘油溶液按照体积比3~4:5~6:2~1分为三份(三份甘油溶液的体积百分比之和为100%),分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液。
- [0021] 优选的,所述步骤4中,所述盐酸溶液的浓度为0.1mol/L。
- [0022] 还优选的,所述步骤4中,调节pH=3.1~3.2。
- [0023] 优选的,所述步骤6中,所述氢氧化钠溶液的浓度为0.1mol/L。
- [0024] 还优选的,所述步骤6中,调节pH=4.0。
- [0025] 作为一个优选的实施方式,本发明提供一种甘精胰岛素注射液的制备方法,所述甘精胰岛素注射液由甘精胰岛素、甘油、间甲酚、氯化锌、盐酸、氢氧化钠和注射用水组成;具体的操作步骤包括:
- [0026] (1)甘油用占所述甘精胰岛素注射液总体积60%~80%的注射用水溶解,配制成甘油溶液;
- [0027] (2)所述甘油溶液按照体积比3~4:5~6:2~1分为三份(三份甘油溶液的体积百分比之和为100%),分别加入甘精胰岛素、间甲酚和氯化锌,混合均匀,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;
- [0028] (3)所述甘精胰岛素-甘油溶液与间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;
- [0029] (4)搅拌下,向所述混合溶液I中加入0.1mol/L盐酸溶液至pH=3.1~3.2且溶液澄清;

- [0030] (5) 向步骤4中得到的溶液中加入所述氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;
- [0031] (6) 搅拌下,向步骤5中得到的溶液中加入0.1mol/L氢氧化钠溶液至pH=4.0;
- [0032] (7) 用注射用水定容至终体积。
- [0033] 本发明所述制备方法,还包括过滤除菌。
- [0034] 本发明的另一个目的,在于提供通过上述制备方法得到的甘精胰岛素注射液。
- [0035] 优选的,所述甘精胰岛素注射液中,含有甘精胰岛素40-500IU/mL、甘油9.2-23mg/mL、间甲酚1.7-5.0mg/mL、锌5 μ g-200 μ g/mL。
- [0036] 更优选的,所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油17mg/mL、间甲酚2.7mg/mL、锌30 μ g/mL。
- [0037] 还优选的,所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油16mg/mL、间甲酚3.2mg/mL、锌27 μ g/mL。
- [0038] 本发明通过优化甘精胰岛素注射液的制备工艺,使制备周期由现有技术的90分钟以上缩短到30分钟左右,至少节省近三分之二的时间。由于制备时间的缩短,使成品的工艺杂质大幅减少,提高注射液的质量,保证患者用药安全。本发明方法制备的甘精胰岛素注射液,不含PEG等高分子辅料和吐温等表面活性剂,减少不良反应发生的机率,因此更安全,更适于患者长期使用。

具体实施方式

[0039] 以下参照具体的实施例来说明本发明。本领域技术人员能够理解,这些实施例仅用于说明本发明,其不以任何方式限制本发明的范围。凡是不背离本发明构思的改变或等同替代均包括在本发明的保护范围之内。

[0040] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的药材原料、试剂材料等,如无特殊说明,均为市售购买产品。

[0041] 制备方法1(本发明提供的制备方法):(1)取1L烧杯,加入转子,置于磁力搅拌器上,加入甘油和600mL注射用水,搅拌下使甘油溶解,得到甘油溶液;(2)甘精胰岛素、间甲酚、氯化锌分别用180mL、300mL、120mL所述甘油溶液预溶,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;(3)所述甘精胰岛素-甘油溶液与间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;(4)搅拌下,向所述混合溶液I中加入0.1mol/L的盐酸溶液至pH=3.0~3.5,甘精胰岛素迅速溶解,溶液澄清;(5)加入氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;(6)用注射用水定容至900mL,加入0.1mol/L的氢氧化钠溶液调节pH=4.0;(7)用注射用水定容至1L,过滤除菌即得。

[0042] 制备方法2(本发明提供的制备方法):(1)取1L烧杯,加入转子,置于磁力搅拌器上,加入甘油和800mL注射用水,搅拌下使甘油溶解,得到甘油溶液;(2)甘精胰岛素、间甲酚、氯化锌分别用320mL、400mL、80mL甘油溶液预溶,得到甘精胰岛素-甘油溶液、间甲酚-甘油溶液和氯化锌-甘油溶液;(3)所述甘精胰岛素-甘油溶液和间甲酚-甘油溶液混合,搅拌均匀,得到混合溶液I;(4)搅拌下,向所述混合溶液I中加入0.1mol/L的盐酸溶液至pH=3.1~3.2,使甘精胰岛素迅速溶解,溶液澄清;(5)加入氯化锌-甘油溶液,搅拌均匀;(6)用注射用水定容至900mL;加入0.1mol/L的氢氧化钠溶液调节pH=4.0;(7)用注射用水定容至1L,过滤除菌即得。

[0043] 制备方法3(美国专利US5656722的制备方法)：取1L烧杯，加入转子，置于磁力搅拌器上，加入甘油、间甲酚、氯化锌和900mL注射用水，搅拌使溶液澄清；用0.1mol/L的盐酸调节pH=4；加入甘精胰岛素，搅拌使溶液澄清；用0.1mol/L的氢氧化钠调节pH=4，用注射用水定容至1L，过滤除菌即得。

[0044] 制备方法4：制备方法4：取1L烧杯，加入转子，置于磁力搅拌器上，加入甘精胰岛素和900mL注射用水，用0.1mol/L的盐酸调节pH至3-4，搅拌使溶液澄清；加入甘油、间甲酚、氯化锌，搅拌使溶液澄清；用注射用水定容至1L，过滤除菌即得。

[0045] 上述制备方法中，各步搅拌时，转子的转速在200~400转/分钟范围内调节转速，以既可以搅拌均匀、产生的泡沫又可以接受为度。

[0046] 实施例1不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0047] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油17mg/mL、间甲酚2.7mg/mL、锌30 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4；按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0048] 实施例2不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0049] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素100IU/mL、甘油16mg/mL、间甲酚3.2mg/mL、锌27 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4。按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0050] 实施例3不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0051] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素200IU/mL、甘油23mg/mL、间甲酚4.0mg/mL、锌60 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4。按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0052] 实施例4不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0053] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素50IU/mL、甘油10mg/mL、间甲酚1.7mg/mL、锌20 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4。按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0054] 实施例5不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0055] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素300IU/mL、甘油23mg/mL、间甲酚4.9mg/mL、锌100 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4。按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0056] 实施例6不同方法制备的甘精胰岛素注射液

[0057] 本实施所述甘精胰岛素注射液含有甘精胰岛素150IU/mL、甘油20mg/mL、间甲酚2.5mg/mL、锌45 μ g/mL、盐酸、氢氧化钠及注射用水，pH=4。按照上述的制备方法1、制备方法2、制备方法3和制备方法4分别制备甘精胰岛素注射液，并记录制备周期所需时间，结果见表1。

[0058] 表1实施例1-6所述甘精胰岛素注射液的制备周期时间

	制备周期时间(分钟)							
	实施例1	实施例2	实施例3	实施例4	实施例5	实施例6	平均制备周期	
[0059]	制备方法1	29	31	32	25	36	33	31.00±3.74
	制备方法2	30	32	29	27	34	35	31.17±3.06
	制备方法3	91	90	95	79	101	97	92.17±7.60
	制备方法4	87	95	92	80	90	98	90.33±6.35

[0060] 不同处方的原料分别采用本发明提供的制备方法与现有技术制备成甘精胰岛素注射液。表1数据显示,本发明提供的制备方法的制备周期时间仅为30分钟左右,方法3和4则需要90分钟左右,最长达到101分钟(实施例5中的制备方法3)。采用t检验对表1中的数据进行统计学分析,本发明的制备方法1和2的制备周期时间无显著性差异($P>0.05$) ;而制备方法1的制备周期时间分别与现有技术制备方法3和4相比,均具有显著性差异($P<0.05$) ;制备方法2的制备周期时间与现有技术制备方法3和4相比,也均具有显著性差异($P<0.05$) 。因此,相较现有技术,本发明的方法可以显著缩短甘精胰岛素注射液的制备周期;以制备方法3和4为比较基准,本发明的方法可以将制备周期时间减少近三分之二。

[0061] 试验例1甘精胰岛素注射液相关质量考察

[0062] 考察实施例1-2制得的甘精胰岛素注射液的质量,检测pH、效价、总相关物质、最大相关物质、高分子蛋白和冰点下降。

[0063] 其中pH采用pH计检测;效价、总相关物质和最大相关物质采用高效液相色谱法检测;高分子蛋白采用分子排阻色谱法检测;冰点下降采用冰点法检测;具体检测方法参见2010版《中国药典》附录。

[0064] 高效液相色谱法检测总相关物质和最大相关物质的具体操作如下:

[0065] 色谱条件:Waters高效液相色谱仪,Kromasil C4柱(柱长=150mm,直径4.6mm;100A-3.5um),流动相为磷酸盐缓冲液-乙腈体系,流速每分钟1.0ml/min,柱温35℃,检测波长214nm。

[0066] 流动相具体配制方法如下:

[0067] 磷酸盐缓冲液:取磷酸二氢钠20.7g,加水800ml溶解,再用85%磷酸调节pH值至2.5,加水至1L,过滤。

[0068] 流动相A(25%乙腈):取氯化钠18.4g,加上述磷酸盐缓冲液250ml溶解,加乙腈250ml,混匀后,用水稀释至1000mL,0.45μm滤膜过滤;

[0069] 流动相B(65%乙腈):取氯化钠3.2g,加上述磷酸盐缓冲液250ml溶解,加乙腈650ml,混匀后,用水稀释至1000mL,0.45μm滤膜过滤。

[0070] 按下表进行梯度洗脱:

时间(分)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	96	4
20	83	17
[0071]	63	37
	96	4
	96	4
	96	4

[0072] 供试品的配制:分别精密量取由制备方法1、2、3、4制得的甘精胰岛素注射剂样品5ml,按每1ml加9.6mol/L盐酸溶液3μl,作为供试品溶液。

[0073] 测定法:精密量取10μl,注入液相色谱仪,记录色谱图,扣除间甲酚峰,按峰面积归一化法计算,即得总相关物质和最大相关物质含量。

[0074] 实施例1制备的4种甘精胰岛素注射液,在上述色谱条件下共检测到包括甘精胰岛素在内的十几个吸收峰(扣除间甲酚的吸收峰,色谱图略),各峰的峰面积归一化法计算结果见表2-表5。

[0075] 表2甘精胰岛素注射液HPLC图谱积分结果(实施例1制备方法1)

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)	峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
1	6.65	0.08	[0076]	10	21.89
2	13.89	0.01		11	23.16
3	15.90	0.03		12	23.85
4	17.41	0.09		13	26.17
5	18.53	0.01		14	26.54
6	19.28	0.19		15	27.62
7	19.72	<u>0.29</u>		16	28.85
8	20.32	<u>98.79</u>		17	31.15
9	21.53	0.16		总计	100.00

[0077] 表3甘精胰岛素注射液HPLC图谱积分结果(实施例1制备方法2)

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)	峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
1	6.85	0.08	[0078]	9	22.83
2	16.22	0.02		10	24.77
3	17.79	0.09		11	25.07
4	19.68	<u>0.41</u>		12	25.92
5	20.19	<u>98.84</u>		13	26.89
6	21.04	0.15		14	30.10
7	21.45	0.12		总计	100.00
8	22.32	0.04			

[0079] 表4甘精胰岛素注射液HPLC图谱积分结果(实施例1制备方法3)

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
1	2.50	0.35
2	2.80	0.62
3	3.19	0.57
4	3.48	0.53
5	5.58	0.04
6	6.63	0.03
7	17.93	0.02
8	19.90	0.31

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
9	20.61	<u>96.10</u>
10	21.91	<u>0.86</u>
11	23.48	0.19
12	25.79	0.06
13	26.13	0.21
14	26.74	0.05
15	27.95	0.06
总计		100.00

[0081] 表5甘精胰岛素注射液HPLC图谱积分结果(实施例1制备方法4)

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
1	4.51	0.01
2	5.58	0.04
3	6.65	0.03
4	15.22	0.02
5	16.32	0.08
6	16.89	0.17
7	17.45	0.10
8	18.44	0.79
9	19.03	<u>96.79</u>
10	20.09	<u>1.10</u>

峰号	保留时间(min)	相对峰面积(%)
11	21.29	0.38
12	21.72	0.20
13	23.60	0.04
14	24.19	0.13
15	25.23	0.04
16	25.75	0.02
17	26.72	0.04
18	28.85	0.02
总计		100.00

[0083] 分子排阻色谱法检测高分子蛋白的具体操作如下:

[0084] 色谱条件:Warters高效液相色谱仪,Waters Insulin HMWP柱,流动相为冰醋酸-乙腈-水混合溶液(取冰醋酸200ml,加乙腈300ml,加水400ml,混匀后,用25%氨溶液调节pH值至3.0,加水至1000ml),流速每分钟0.5ml/min;检测波长276nm。

[0085] 供试品的配制:分别精密量取由制备方法1、2、3、4制得的甘精胰岛素注射剂样品2ml,用0.01mol/L盐酸溶液稀释至5ml。

[0086] 测定法:取供试品溶液100μl,注入液相色谱仪,记录色谱图,保留时间小于甘精胰岛素主峰的所有峰面积之和按峰面积归一化法计算,即得高分子蛋白含量。

[0087] 考察结果:

[0088] 实施例1和实施例2制得的甘精胰岛素注射液样品的各项质量考察检测结果见表6和表7。

[0089] 表6实施例1的制备工艺质量考察结果

pH	效价	总相关物质	最大相关物质	高分子蛋白	冰点下降
	(IU/mL)	(%)	(%)	(%)	(℃)
制备方法 1	4.01	100.8	1.21	0.29	未检出
制备方法 2	3.98	101.1	1.16	0.41	未检出
制备方法 3	4.02	102.5	3.90	0.86	0.5188
制备方法 4	3.99	100.7	3.21	1.10	0.5217

[0091] 表7实施例2的制备工艺质量考察结果

[0092]	pH	效价 (IU/mL)	总相关物质 (%)	最大相关物质 (%)	高分子蛋白 (%)	冰点下降 (℃)
	制备方法 1	4.04	102.1	1.32	0.45	未检出 0.5210
[0093]	制备方法 2	4.01	103.0	1.28	0.31	未检出 0.5194
	制备方法 3	3.94	100.9	3.87	1.02	0.01 0.5199
	制备方法 4	4.00	100.5	3.66	0.98	0.03 0.5217

[0094] 实施例1和实施例2中采用本发明提供的制备方法制得的甘精胰岛素注射液, pH、效价和冰点下降与现有技术制得的甘精胰岛素注射液无明显差异; 但总相关物质、最大相关物质均明显降低, 高分子蛋白也并未检出。

[0095] 另外, 实施例3-6制备的甘精胰岛素注射液, 经过质量检测, 结果与实施例1和2的一致: 与方法3和4得到的甘精胰岛素注射液比较, 采用本发明提供的制备方法(方法1和2)制得的注射液的总相关物质和最大相关物质含量明显降低, 高分子蛋白未检出(具体结果及色谱图略)。

[0096] 因此, 本发明提供的制备方法能够降低甘精胰岛素注射液的工艺杂质, 从而提高用药安全。

[0097] 总之, 本发明的制备方法使甘精胰岛素注射液的制备周期时间由约90分钟缩短为约30分钟, 缩短了近三分之二, 提高了制备效率, 降低了工艺耗能。更重要的是, 在绿色环保的同时, 本发明的制备方法减少了相关物质和高分子蛋白等工艺杂质的生成, 提高了甘精胰岛素注射液的质量。另外, 本方法操作简单易行, 适合规模化大生产。

[0098] 以上对本发明具体实施方式的描述并不限制本发明, 本领域技术人员可以根据本发明做出各种改变或变形, 只要不脱离本发明的精神, 均应属于本发明所附权利要求的范围。